



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان
دانشکده داروسازی و علوم دارویی
مرکز تحقیقات فارماسیوتیکس

پایان نامه دکترای عمومی داروسازی

عنوان :

بررسی فعالیت بیوامولسیفایر در پنج سویه مختلف
پسودوموناس آئروژینوزا (PTCC1310,1181,1599,1572,1574)

توسط :

محمد علی حسینی

به راهنمایی :

دکتر غلامرضا دهقان

دکتر محمد حسن مصحفی



Kerman University of Medical Sciences

School of Pharmacy

Pharmaceutics Researches center

For the Certificate of Pharm. D. Degree

Title:

**Evaluation of activity of bioemulsifier from
Pseudomonas aeruginosa (PTCC1310,1181,1599,1572,1574)**

By:

Mohammad Ali Hosseini

Supervisors:

Dr. Gholam Reza Dehghan

Dr. Mohammad Hassan Moshafi

Autumn 2012

Thesis No: 647

خلاصه

بیوسورفکتنت ها مولکول های فعال سطحی ، آمفی فیل و خارج سلولی هستند که توسط انواع زیادی از میکروارگانیسم ها تولید می شوند و قادر به کاهش سطحی و بین سطحی هستند . بیوسورفکتنت ها نسبت به سورفکتنت های شیمیایی مزایای قابل توجهی دارند که همین مزایا باعث شده به تدریج جایگزین سورفکتنت های شیمیایی شوند . از جمله این مزایا می توان به تنوع ، سازش با محیط ، اختصاصی بودن در دما و غلظت های مختلف نمک ، سمیت کم و طبیعت زیست تخریب پذیر اشاره کرد . از لحاظ کاربردی بیوسورفکتنت ها مانند سورفکتنت های شیمیایی دارای خواص وسیعی شامل اثرات تر کنندگی ، کف کنندگی ، امولسیون کنندگی ، کاهنده ویسکوزیته و حل کنندگی می باشند . به همین دلیل از این ترکیبات در صنایع آرایشی ، دارویی ، کشاورزی ، پتروشیمی و استفاده می شود . در این تحقیق تولید بیوسورفکتنت از پنج سویه *پسودوموناس آئروژینوزا* مورد بررسی قرار گرفت . در آزمایشات اولیه جهت انتخاب سویه مناسب از بین پنج سویه از روش های همولیز در محیط آگار خون دار و تولید کف در کشت مایع نوترینت براس استفاده شد . *پسودوموناس آئروژینوزا* PTCC۱۱۸۱ به عنوان سویه برتر انتخاب و در محیط کشت نوترینت براس رشد داده شد . تولید بیوسورفکتنت هر ۲۴ ساعت به کمک شاخص امولسیون سازی و کشش سطحی مایع روی کشت ارزیابی گردید . بهترین زمان تولید بیوسورفکتنت ۷۲ ساعت بعد از کشت میکروب بود . سپس شرایط محیط کشت سویه برگزیده بهینه سازی شد که بهترین محیط کشت مایع ، محیط نوترینت براس به همراه یون منگنز ، نشاسته و روغن بادام بود و دمای مناسب برای رشد ۳۷ درجه سانتی گراد بود . پس از جداسازی جسم میکروبی ، بیوسورفکتنت از مایع روی کشت با روش رسوب گیری با اسید استخراج گردید . با روش های بیوشیمیایی ساختمان آمفی فیل آن شامل یک بخش اسید چرب و یک بخش قند مورد تایید قرار گرفت .

لغات کلیدی : بیوسورفکتنت ، *پسودوموناس آئروژینوزا* ، کشش سطحی ، شاخص امولسیون سازی

Abstract

Biosurfactants are extracellular , amphipathic surface-active agents produced by many types of microorganisms which are capable of reducing the surface and interfacial tensions. Biosurfactants have remarkable advantages over chemical surfactants that these advantages cause the replacement of chemical surfactants by biosurfactants gradually. Among these advantages we can mention variety, environmental compability, specific activity in tempretures and different salt concentrations, low toxicity and biodegradability. In practical aspect as well as chemical surfactants, biosurfactants have lots of functions and properties including wetting, foaming, emulsifying, solubilizing and reducing viscosity, so these compounds are used in cosmetic, pharmaceutical, agriculture and petrochemical industry. In this study the production of biosurfactant by five strains of *Pseudomonas aeruginosa* was investigated. In primary tests for choosing suitable strain hemolytic activity in blood agar medium and foam forming method in nutrient broth medium were used. *P.aeruginosa* PTCC 1181 was selected as the best strain. This strain was grown in nutrient broth medium and biosurfactant production was evaluated every 24 hours by surface tension and emulsification index. The best time for production of the biosurfactant was 72 hours after cultivation in the medium. Then the conditions of the medium of the selected strain was improved. The best liquid medium was nutrient broth medium with Mn^{2+} ion, starch and almond oil and suitable tempreture for growing was $37^{\circ}C$. After growing the bacteria was removed from the supernatants by acidic percipitation method and it's amphipatic structure was established by 2 biochemical methods and sugar-lipid structure.

Keywords : biosurfactant, *Pseudomonas aeruginosa*, surface tension , emulsification index